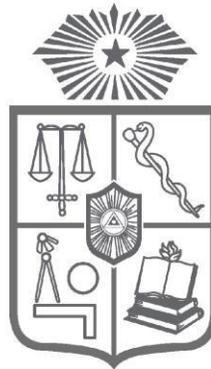




**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**ESCUELA DE POSTGRADO**



**“La fuerza del reflejo olivococlear medial se asocia con el rendimiento de las respuestas tardías en una tarea de discriminación visual con distractores sonoros ecológicos”**

David Morales Zepeda

**TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE MAGISTER EN NEUROCIENCIAS**

Director Prof. Dr. Paul Délano Reyes

Director Prof. Dr. Sergio Vicencio Jiménez

**2022**

# Índice

Portada	1
Índice	2
Resumen	3
Abstract	4
Introducción	5
Pregunta de Investigación	8
Hipótesis	8
Predicción:	8
Objetivos	8
Objetivo general:	8
Objetivos específicos	8
Metodología	9
Animales	9
Estimación del reflejo olivococlear medial	9
Figura 1.	12
Figura 2.	13
Aparatos y entrenamiento	13
Figura 3.	14
Protocolo conductual	15
Distractores auditivos de la tarea de comportamiento	16
Figura 4.	17
Análisis de los datos	18
Resultados	19
Figura 5.	19
Figura 6.	22
Tabla 1.	24
Tabla 2.	25
Tabla 3.	26
Discusión	27
Limitaciones	27
Periodos de respuesta y reflejo MOC.	27
Desempeño en periodos de respuesta tempranos y tardíos	28
	2

Distractores auditivos y rendimiento conductual	29
Carga emocional del distractor auditivo ecológico	30
Limitaciones	31
Conclusión	32
Referencias (Bibliografía)	33

## Resumen

Los mamíferos poseen una red neural que se origina en la corteza auditiva y desciende a través de diferentes núcleos subcorticales hasta llegar al receptor coclear. A esta red, denominada sistema auditivo eferente, se le han atribuido funciones específicas en cuanto al control cognitivo sobre las respuestas tempranas a señales auditivas provenientes del exterior, por ejemplo, la supresión de información irrelevante mientras se destinan recursos cognitivos a otra modalidad sensorial. La implicancia del sistema eferente auditivo frente al procesamiento cognitivo y el desempeño conductual sigue siendo un fenómeno abierto a la discusión. En ratones, ratas y chinchillas existe evidencia que respalda fuertemente la funcionalidad del sistema auditivo eferente en tareas conductuales operantes de atención selectiva. Aquí nos preguntamos si puede ser el sistema eferente auditivo un filtro biológico a respuestas auditivas involucrado en procesos cognitivos distintos a atención selectiva. Proponemos que la fuerza del reflejo olivococlear medial se correlaciona con las respuestas conductuales tardías, emitidas luego de un periodo de oscuridad de al menos 2 segundos desde el término de la luz objetivo, en una tarea de atención selectiva visual en presencia de distractores auditivos. Por lo tanto, investigamos si la fuerza del reflejo olivococlear medial se asocia con el desempeño conductual de las respuestas tardías durante un paradigma de atención visual selectiva en chinchillas. Encontramos que la fuerza del reflejo olivococlear, medido con ruido contralateral y emisiones otoacústicas, se asocia con el desempeño de los animales en respuestas conductuales tardías en presencia de distractores auditivos ecológicamente relevantes. Estos resultados sugieren que el sistema auditivo eferente puede funcionar como filtro biológico de respuestas a distractores auditivos en procesos que ocurren segundos después de la presentación de estímulos conductualmente relevantes.

## Abstract

Mammals have a neural network that originates in the auditory cortex and descends through different subcortical nuclei to reach the cochlear receptor. This network, called the efferent auditory system, has been attributed specific functions in terms of cognitive control over early responses to auditory signals from the outside, for example, the suppression of irrelevant information while cognitive resources are allocated to another sensory modality. The implication of the auditory efferent system in cognitive processing and behavioral performance remains a phenomenon open to discussion. In mice, rats and chinchillas there is evidence that strongly supports the functionality of the efferent auditory system in operant behavioral tasks of selective attention. Here we wonder if the auditory efferent system may be a biological filter for auditory responses involved in cognitive processes other than selective attention. We propose that the strength of the medial olivocochlear reflex correlates with late behavioral responses, emitted after a period of darkness of at least 2 seconds from the end of the target light, in a visual selective attention task in the presence of auditory distractors. Therefore, we investigated whether medial olivocochlear reflex strength is associated with behavioral performance of delayed responses during a selective visual attention paradigm in chinchillas. We found that the strength of the olivocochlear reflex, measured with contralateral noise and otoacoustic emissions, is associated with the animals' performance in delayed behavioral responses in the presence of ecologically relevant auditory distractors. These results suggest that the efferent auditory system may function as a biological filter for responses to auditory distractors in processes that occur seconds after the presentation of behaviorally relevant stimuli.

## Introducción

El sistema eferente auditivo de mamíferos es una red neuronal que se origina en la corteza auditiva y desciende a través de vías corticofugales a diversos núcleos subcorticales de la vía auditiva, para llegar hasta el receptor coclear a través del haz olivococlear (Rasmussen, 1942; Feliciano, Saldaña y Mugnaini, 1995; Mulders y Robertson, 2000; Aedo et al., 2015; Terreros y Delano, 2015). Las neuronas olivococleares se clasifican según su origen en el tronco encefálico en mediales y laterales (Warr y Guinan, 1979). Las neuronas del sistema eferente olivococlear lateral hacen sinapsis con las neuronas aferentes que provienen de las células ciliadas internas (Guinan, 1996), mientras que las fibras del sistema olivococlear medial hacen sinapsis con las células ciliadas externas de la cóclea (Délano et. al., 2007). Estas sinapsis son principalmente colinérgicas, actuando sobre receptores nicotínicos alfa9/10, y a través de un mecanismo indirecto con canales de potasio tipo SK2, provoca hiperpolarización en las células ciliadas externas (Oliver et al., 2000).

En forma natural, la estimulación acústica contralateral e ipsilateral activa las fibras olivococleares mediales, suprimiendo las respuestas cocleares. (Maison y Liberman, 2000). Usando esta característica, se puede medir la funcionalidad del sistema olivococlear medial, a través de las otoemisiones acústicas, señales provenientes de la cóclea que se pueden registrar desde el conducto auditivo externo por medio de un micrófono (Kemp, 2002) en un paradigma con estímulos auditivos contralaterales. Este protocolo permite estimar la función del circuito eferente auditivo del tronco encefálico, específicamente de las neuronas olivococleares mediales.

Además de los circuitos eferentes auditivos del tronco encefálico, diversos estudios fisiológicos han demostrado que la corteza auditiva puede modular las respuestas aferentes provenientes de la cóclea (Xiao y Suga, 2002; Perrot et. al., 2005; León et. al., 2012). A esta modulación del órgano coclear se le han atribuido funciones como: anti-enmascaramiento de las señales acústicas en presencia de ruido de fondo (Kawase y Liberman, 1993), modulación de la actividad aferente durante el sueño/vigilia (Velluti, Pedemonte y Garcia-Austt, 1989; Madrid-López et. al., 2017),

atención selectiva (Oatman, 1971; Delano et. al., 2007) y memoria de trabajo (Simon et. al., 2016; Tusch et. al., 2016; Sorqvist, 2012; Marcerano et. al., 2021).

Se ha propuesto que durante el procesamiento cognitivo, la actividad descendente (*top-down*) puede modular las respuestas sensoriales en distintos niveles del sistema nervioso, posicionando al sistema eferente auditivo como un verdadero “filtro biológico” (Johnson y Zatorre, 2006; Fritz et. al., 2007; Lauer et. al., 2021). Por ejemplo, se han demostrado cambios en la actividad neuronal en diferentes niveles de la vía auditiva, incluidas regiones corticales (Woldorff et. al., 1993; Shomstein y Yantis, 2004), núcleos subcorticales (Hernández-Peón et. al., 1956), el nervio auditivo y la cóclea (Delano et. al., 2007) en modelos de atención selectiva visual en presencia de distractores auditivos. Estos cambios se han atribuido a modulaciones por parte de las vías corticofugales auditivas (Aedo et. al., 2016; Terreros et al., 2016). En la misma línea, se ha reportado un desempeño deficiente en tareas de atención visual selectiva en presencia de distractores auditivos por parte de ratones KO para el receptor nicotínico alfa-9 de las células ciliadas externas que carecen de actividad eferente (Terreros et. al., 2016). También, que las estimaciones de la función eferente auditiva en las chinchillas [evaluadas midiendo la fuerza del reflejo olivococlear medial (MOC)] predicen el rendimiento de la atención visual en presencia de distractores auditivos (Bowen et. al., 2020). Ésta evidencia también está respaldada por hallazgos en humanos, que mostraron modulaciones de las emisiones otoacústicas, durante la atención selectiva visual (Wittekindt et. al., 2014; Dragicevic et. al., 2019).

Considerando que las vías eferentes auditivas modulan los estímulos auditivos irrelevantes cuando los recursos cognitivos atencionales se enfocan en otra modalidad sensorial, resulta realmente interesante pensar que el sistema eferente como filtro biológico podría no estar limitado solo a la atención selectiva. Surge de esta forma la pregunta de investigación ¿puede ser el sistema eferente auditivo un filtro biológico a respuestas auditivas involucrado en otros procesos cognitivos?. En esta línea, un estudio realizado en nuestro laboratorio con otoemisiones acústicas (Marcenaro et al., 2021), demostró que la fuerza del reflejo MOC es modulada durante una tarea de memoria de trabajo visual en humanos.

En línea con la evidencia anteriormente expuesta y los trabajos realizados previamente en el laboratorio, nos preguntamos si el sistema auditivo eferente podría estar asociado con el rendimiento conductual de las chinchillas en aquellas respuestas que ocurren al menos 2,5 segundos después del fin del estímulo que permite realizar la decisión en una tarea de discriminación visual en presencia de distractores auditivos. La propuesta se basa en que uno de los elementos particulares que presenta la tarea de condicionamiento operante de atención selectiva utilizada en chinchilla y de la cual nos hemos referido a lo largo del texto, es que permite que el animal responda a la luz objetivo luego de que la luz se apagó. Ya que la luz objetivo tiene una duración de 0,5 segundos y el periodo de respuesta se extiende por 4,5 segundos más. El período que estudiaremos se inicia a los 2,5 segundos después del término de la luz objetivo, por lo que el animal responde a la luz luego de un período de, al menos 2,5 segundos de oscuridad.

Nos parece plausible que las respuestas que el animal ejecuta en ausencia de la señal objetivo podrían requerir otros recursos distintos a la atención, por ejemplo, memoria de trabajo, o como alternativa, un correlato de función ejecutiva. Es importante resaltar que una de las limitaciones del paradigma es que no permite demostrar una asociación directa con la memoria de trabajo visual o motora (ejecutiva), pero podría ser la base para futuros experimentos más controlados. En ése caso la tarea debe entonces retener por un periodo de tiempo la información de un evento o una relación de eventos específicos, donde los estímulos específicos que condicionan la respuesta correcta no estén disponibles en el periodo de respuesta (al menos 2 segundos) y se presenten aleatoriamente entre los ensayos (Honig, 1978; Olton, 1976; Pontecorvo y Clissold, 1993).

En este contexto, investigamos si la fuerza de MOC estaba asociada con el desempeño conductual de las respuestas tardías (>2 segundos de oscuridad desde el apagado de la luz objetivo) durante una tarea de atención visual selectiva en chinchillas. Comparamos la fuerza del reflejo MOC con el desempeño en condiciones tranquilas y en presencia de dos tipos diferentes de distractores auditivos: ruido de banda ancha (BBN) y vocalizaciones de angustia de chinchilla.

## Pregunta de Investigación

¿Puede ser el sistema eferente auditivo un filtro biológico a respuestas auditivas involucrado en procesos cognitivos distintos a atención selectiva?

## Hipótesis

La fuerza del reflejo olivococlear se correlaciona con las respuestas conductuales tardías, emitidas luego de un periodo de oscuridad de al menos 2 segundos desde el término de la luz objetivo, en una tarea de atención selectiva visual en presencia de distractores auditivos.

## Predicción:

Esperábamos encontrar una correlación positiva entre la fuerza del reflejo olivococlear y el desempeño conductual de las respuestas tardías en presencia de distractores auditivos.

## Objetivos

### Objetivo general:

- Investigar si la fuerza del reflejo olivococlear medial se asocia con el desempeño conductual de las respuestas tardías (que ocurren luego de al menos 2 segundos de oscuridad, después de apagadas las luces laterales o “target” de la tarea de discriminación visual) durante un paradigma de atención visual selectiva en chinchillas.

### Objetivos específicos

- Describir la distribución temporal de las respuestas conductuales durante el protocolo experimental.
- Comparar el rendimiento de los animales durante todas las condiciones del protocolo experimental.
- Establecer la fuerza del reflejo olivococlear inducido por estimulación acústica contralateral.
- Evaluar la asociación entre el desempeño de los animales en las distintas etapas del protocolo y una medida del reflejo olivococlear medial.

## Metodología

### Animales

Se utilizaron datos provenientes de 19 ejemplares adultos de chinchilla (*Chinchilla Laniger* de 4 +/- 1 años), todos machos. Al comenzar los entrenamientos conductuales, todos los animales pesaron entre 500g y 700g. No todas las chinchillas fueron incluidas en los análisis, ya que tres tuvieron que abandonar el entrenamiento por dificultades de salud física, dos no cumplieron con los requerimientos en cuanto al desempeño de comportamiento, y en una chinchilla no fueron posibles los registros adecuados de reflejo olivococlear medial.

Se realizaron esfuerzos para minimizar la cantidad de animales utilizados, reducir el estrés y promover el bienestar de los animales. Las chinchillas se mantuvieron en jaulas individuales, ubicadas contiguamente una al lado de la otra, dentro de una habitación con temperatura y humedad controlada, y con un ciclo inverso de luz-oscuridad, con luces encendidas de 8 p.m. a 8 a.m. Cada semana, las chinchillas pasaban al menos 3 horas en una sala de recreación. Allí podían bañarse en arena y ejercitarse. El periodo experimental consideró agua al libitum y privación de alimentos. Siempre se procuró mantener entre el 85% y el 90% del peso corporal inicial.

Todos los procedimientos fueron aprobados por el Comité de Ética Animal de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile (n° de permiso 0844) y se realizaron de acuerdo con el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio del Consejo Nacional de Investigación (2011). Cabe señalar que en esta investigación se utilizaron animales, y datos sin procesar de un estudio anterior del laboratorio publicado por Bowen et. al., 2020. En esta oportunidad se realizó un nuevo análisis para indagar sobre los procesos cognitivos asociados a respuestas conductuales tardías que ocurren luego de un período de al menos 2 segundos de oscuridad.

### Estimación del reflejo olivococlear medial

Para determinar la fuerza del reflejo olivococlear medial en las chinchillas se compararon los valores de otoemisiones acústicas producto distorsión (OEAPD) en presencia y ausencia de estimulación acústica contralateral (EAC) con ruido de banda

ancha. Estas mediciones se realizaron en dos ocasiones: previo al entrenamiento conductual y después de terminar el protocolo conductual. La OEAPD se midieron considerando la fórmula  $2f_1-f_2$ , y según los procedimientos descritos por Maison y Liberman (2000). El sistema de registro de las OEAPD consistió en un micrófono ER-10B+ marca Etymotic Research con una ganancia de 40 dB, instalado en el oído derecho. La señal se amplificó 10.000 veces y se filtró entre 0,1 y los 10 kHz con una tarjeta Krohn-hite modelo 3323. La señal se digitalizó a una frecuencia de muestreo de 40 kHz. y fue almacenada para ser analizada posteriormente.

El procedimiento consistió en que las chinchillas despiertas fueron colocadas en un restrictor corporal hecho a medida para restringir suavemente la movilidad del cuerpo y el cuello. El soporte se ubicó en una sala insonorizada, donde la temperatura ambiente se mantuvo entre los 23 y 24 °C en condiciones de oscuridad. Para que las chinchillas logaran permanecer cómodas en el restrictor corporal durante la medición de las OEAPD, los animales fueron habituados en tres sesiones de acercamiento al aparato. En estas sesiones de habituación, se aumentó gradualmente el tiempo de permanencia en el restrictor. Todas lograron permanecer entre 30 a 40 minutos restringidas de movimiento, y durante ese periodo fueron monitoreadas por medio de cámaras de video que se dispusieron dentro de la cámara silente. El monitoreo visual permitió suspender las sesiones en los casos donde las chinchillas se mostrarán inquietas o incómodas.

Luego del proceso de habituación al restrictor corporal, se realizaron las pruebas de medición de OEAPD que consistieron en 1440 ensayos, los que fueron divididos en tres bloques de 480 ensayos cada uno: antes, durante y después de la estimulación acústica contralateral.

Para provocar la OEAPD, el estímulo acústico consistió en un grupo de 7 tonos primarios donde  $f_2$  fue igual a 1440, 2040, 2884, 4080, 5769, 6125 y 8160 Hz. Estos fueron entregados de forma ipsilateral por el oído derecho. La estimulación acústica contralateral necesaria para evocar el reflejo olivococlear medial, se realizó utilizando como estímulo ruido de banda ancha no continuo (0.2 - 10 kHz) a una velocidad de

presentación de 4 Hz y 170 ms de duración, y fue entregado por el oído izquierdo. La intensidad a la que se administró el estímulo contralateral fue de 60 dB SPL.

Los estímulos auditivos tanto ipsilateral y contralateral, fueron generados digitalmente. Para aquello, se utilizaron 2 tarjetas PCI modelo 6071-E de National Instruments; sincronizadas a 100.000 muestras por segundo y atenuadas con atenuadores programables PA-5 de Tucker-Davis Technologies. Se entregaron por medio de transductores ER-2 de Etymotic Research, los que se instalaron bilateralmente sellando el conducto auditivo externo y el pabellón auricular del animal.

La figura 1 muestra una ilustración a modo de ejemplificar la intensidad en decibeles de la señal registrada en el oído ipsilateral para el espectro de frecuencia, durante un ensayo de presentación de par de tonos puros, sin estimulación acústica contralateral. En DP, el segmento de la señal que corresponde a la OEAPD, y F1 y F2 correspondientes al par de tonos puros administrados al mismo oído.

Del mismo modo, en la figura 2 ejemplifica la señal registrada durante un ensayo sin estimulación acústica contralateral en azul, y en rojo la intensidad de la señal en presencia de ruido contralateral. En la esquina superior derecha se observa una ampliación del segmento que corresponde a la OEAPD que muestra la reducción de la intensidad en presencia de ruido contralateral y que se atribuye a la acción del reflejo olivococlear medial por ruido contralateral.

Para la estimulación ipsilateral, los 7 tonos primarios se presentaron a una tasa de presentación de 4 Hz, con una duración de 15 ms, con rampas de inicio y término de 5 ms. La relación fija de  $f_2/f_1$  fue igual a 1,25, y de  $L_1/L_2$  fue de 65/60 dB SPL, correspondientemente. El ruido de banda ancha se administró de forma no continua y contralateral, con un ancho de banda de 0,2 - 10 kHz, a una tasa de presentación de 4 Hz, con una duración de 170 ms. Todos los experimentos iniciaron con la calibración de la presión sonora de ambos oídos utilizando un micrófono Etymotic Research ER10B+ y Knowles.

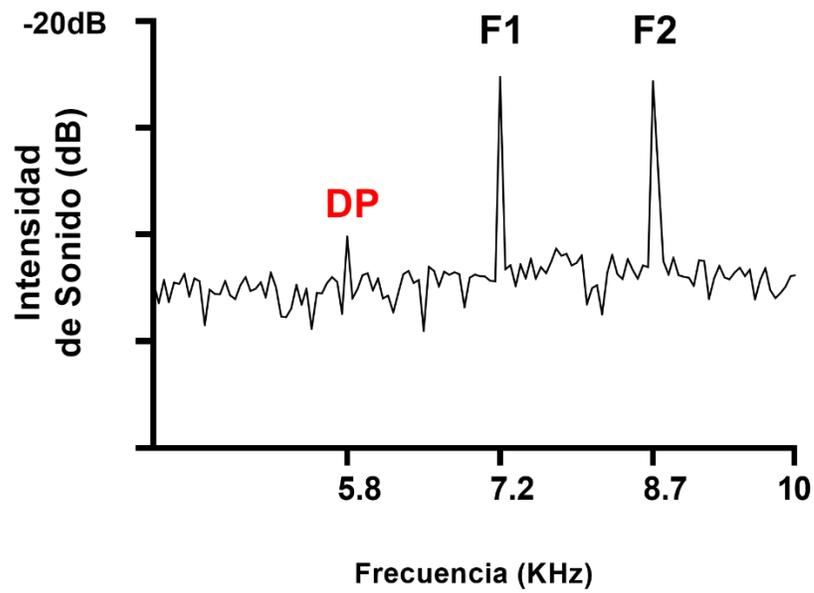


Figura 1.  
Ilustración que muestra la señal cruda obtenida por oído ipsilateral sobre la cual se ejemplifica la otoemisión acústica producto distorsión (DP) y el par de tonos puros (F1-F2) sin estimulación acústica contralateral.

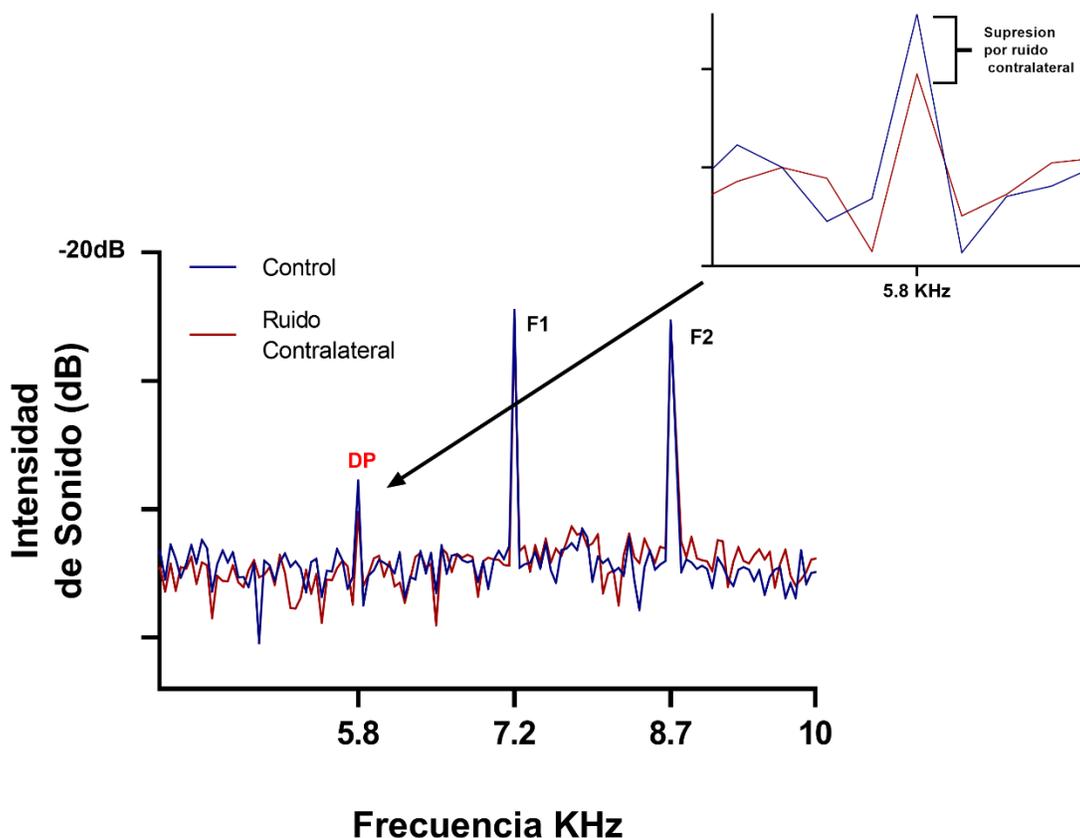


Figura 2. Ilustración que muestra la señal cruda obtenida por oído ipsilateral, sin ruido contralateral (azul), y en presencia de ruido contralateral (rojo). (DP) para el segmento de OEAPD, y F1 – F2 para el par de tonos puros. En el zoom se observa la supresión por ruido contralateral en la OEAPD por acción del reflejo olivococlear medial.

### Aparatos y entrenamiento

Para realizar la tarea conductual se utilizó una cámara de condicionamiento operante (32 cm de largo, 27 cm de ancho y 29 cm de alto), ubicada al interior de una habitación de atenuación sonora con doble muralla, a 1,4 metros del techo y 1 metro del suelo. El panel frontal de la cámara contenía 2 palancas, 3 luces y un dispensador de alimento en pellet. La luz central se ubicaba por encima del dispensador, mientras que las dos luces laterales se ubicaban justo por sobre las dos palancas laterales, derecha e izquierda. La luz central, luces laterales y palancas (derecha e izquierda)

estaban a 17, 10 y 7 cms del suelo de la cámara, respectivamente. El panel frontal se muestra en la figura 3.

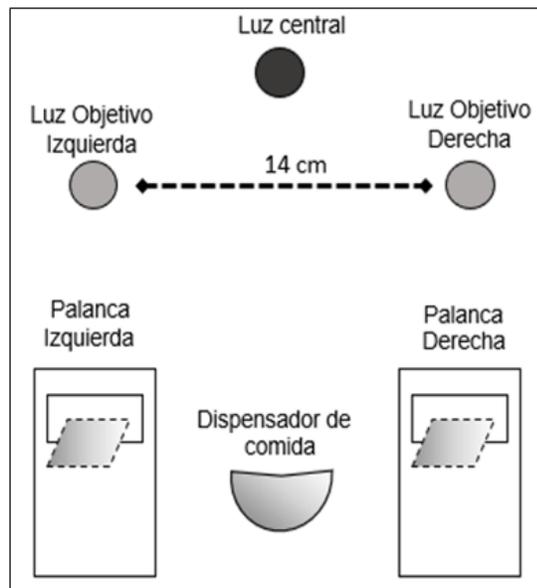


Figura 3. Panel frontal utilizado en la tarea de condicionamiento operante de atención selectiva visual. La cámara operante es idéntica a la utilizada en Délano et. al., (2007).

El aparato propone a la chinchilla una tarea de discriminación visual de dos opciones que ya ha sido utilizada tanto en ratones, chinchillas y ratas. (Hamame et. al., 2006; Delano et. al., 2007; Terreros et. al., 2016) Esta prueba inició cuando la luz central, denominada señal de advertencia, se encendía por dos segundos, la que indicaba el inicio del ensayo. Luego, una de las dos luces laterales, de forma aleatoria, se encendió por 0.5 segundos. Durante el proceso de entrenamiento, las chinchillas fueron entrenadas para presionar la palanca que está inmediatamente debajo de la luz lateral que se encendía en cada ensayo.

Se estableció un periodo de respuesta de 5 segundos que inició junto con la luz lateral, y en donde las presiones de la palanca correspondiente a la luz lateral (objetivo) fueron consideradas como correctas y recompensadas con un pellet de 45 mg marca Noyes PJNI-0045 *Chinchilla Food Pellet de Research Diets*, New Brunswick, NJ, Estados Unidos. De esta forma las respuestas de las chinchillas podían ocurrir en

simultáneo a la luz lateral (target), durante los primeros 0,5 segundos, o en oscuridad en los últimos 4,5 segundos del período de respuesta. Posterior al periodo de respuesta, se estableció un periodo entre ensayos (ITI) que varió aleatoriamente entre 27 y 33 segundos.

Los errores fueron castigados con un periodo de tiempo fuera, que duró 40 segundos, donde las luces permanecieron apagadas y no se administraron recompensas. Los errores se consideraron como: respuestas incorrectas (presionar la palanca opuesta durante el periodo de respuesta), respuestas tempranas (presionar la palanca durante la luz central) y respuestas ITI (presionar la palanca durante el periodo entre los ensayos). Cuando un ensayo no registró respuestas fue considerado una omisión y no se dio tiempo fuera de castigo o recompensa.

Las variables que se consideraron fueron: precisión  $[\text{respuestas correctas} / (\text{respuestas correctas} + \text{incorrectas})] * 100$ , número de respuestas correctas, número de respuestas incorrectas, número de omisiones, y latencia de la respuesta (tiempo entre el inicio de la luz lateral y la presión de la palanca).

Los valores referentes a la cantidad de ensayos por sesión, duración del periodo de respuestas, luces laterales, tiempos entre ensayos y los tiempos de castigo, fueron modificados progresivamente de acuerdo con el rendimiento del animal. El proceso de entrenamiento se extendió por 2 a 3 meses y finalizó cuando las chinchillas lograron una precisión de al menos 70% en una sesión de 110 ensayos, con una duración de las luces laterales de 0,5 segundos, tiempos entre ensayos de 27 a 33 segundos y tiempo fuera (castigo) de 40 segundos. Las chinchillas que lograron estos valores en el desempeño conductual pudieron pasar al protocolo experimental de 12 días.

### Protocolo conductual

El protocolo se extendió por 12 días. Las pruebas conductuales consistieron en 3 etapas de 4 días con 110 ensayos en cada una. La primera etapa se estableció como el periodo de referencia donde las chinchillas realizaron la tarea con los mismos parámetros con los que finalizaron el entrenamiento, y en ausencia de distractores auditivos. Correspondiente a los días 1 al 4. La etapa dos (entre los días 5 y 8) consistía

en que las chinchillas realizaban la misma tarea, pero en presencia de un distractor sin relevancia ecológica: ruido de banda ancha. Por último, en la tercera etapa (entre los días 9 y 12) las chinchillas realizaron la tarea en presencia de un distractor ecológicamente relevante que consistió en vocalizaciones de alarma de una chinchilla macho.

### Distractores auditivos de la tarea de comportamiento

Los distractores auditivos utilizados fueron dos: un ruido de banda ancha (0.02-20 kHz) como distractor ecológicamente irrelevante, y vocalizaciones de chinchilla macho como un distractor con relevancia ecológica. Estas vocalizaciones fueron previamente grabadas en el laboratorio en un contexto de miedo para los animales (Moreno-Gómez et al. 2015). Para este trabajo se utilizaron cuatro vocalizaciones masculinas, con un espectro limpio y con frecuencia fundamental y armónicos claros, usando una diferente cada día de protocolo. Las frecuencias fundamentales de las vocalizaciones fueron entre los 538 y 861 Hz. Con una frecuencia dominante de 1200 Hz. Ambos distractores se presentaron en las etapas correspondientes de forma binaural, a través de un altavoz marca Sony con respuesta de frecuencia entre 20 a 20.000 Hz. Y a una intensidad de 65 dB SPL. El altavoz se ubicó a un metro por sobre la cámara operante, en condiciones de campo libre. Para prevenir o disminuir la habituación, los distractores auditivos se administraron a un ritmo irregular centrado en  $2,5 \pm 1,0$  Hz. (1,5 – 3,5 Hz distribuidos pseudoaleatoriamente).

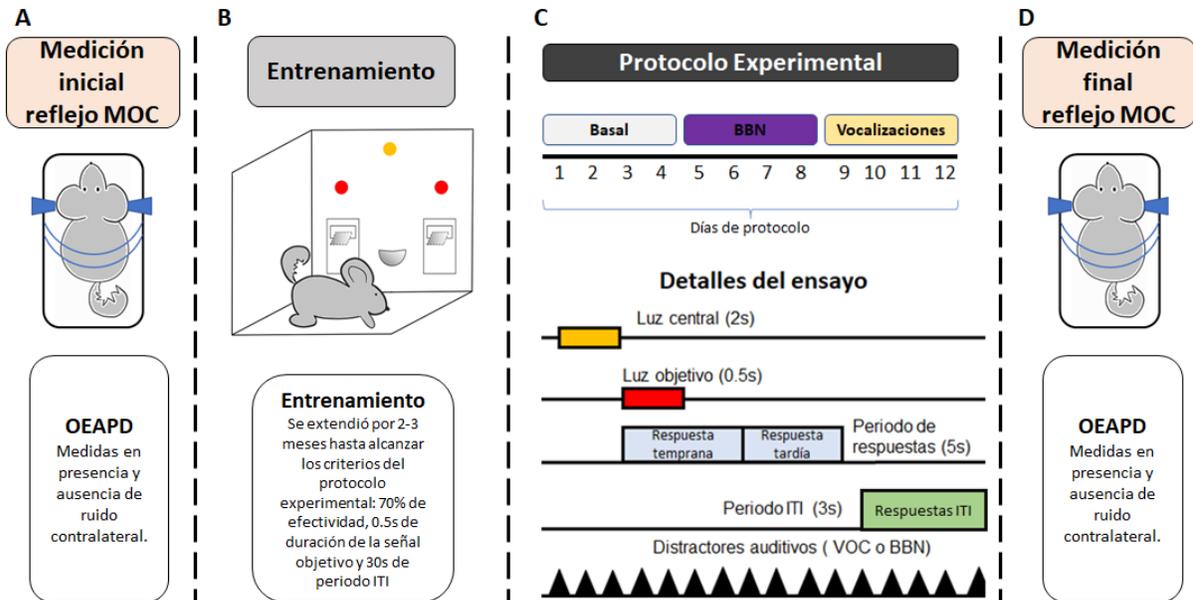


Figura 4.

Diagrama de experimentos. Esquema de las pruebas experimentales a las que fueron sometidos los animales. Primero, se evaluó el reflejo MOC en chinchillas despiertas con movilidad restringida (A). Luego, inició el entrenamiento de la tarea de atención visual en el aparato de condicionamiento operante (B). Después de 2 a 3 meses de entrenamiento, los animales pasaron al protocolo experimental de 12 días (C), donde realizaron la tarea en silencio y en presencia de distractores auditivos (vocalizaciones de Chinchilla y BBN). En la parte inferior del panel se observa el tiempo (C). La tarea comenzó con una luz central (2 segundos), seguida de la presentación de una luz lateral (0,5 segundos) que indicaba qué palanca objetivo del ensayo. Junto con la luz lateral, inició el tiempo de respuesta (5 segundos), tiempo en el que el animal pudo presionar la palanca correcta y obtener una recompensa. Los 3 segundos finales corresponden a parte del período de respuesta de tiempo ITI, cuyas respuestas no obtuvieron recompensa. Terminado el protocolo, se volvió a medir el reflejo MOC de las Chinchillas (D).

## Análisis de los datos

Como ya se ha señalado previamente en el trabajo, uno de los elementos particulares que presenta la tarea de condicionamiento operante utilizada, es que permite que el animal responda a la luz objetivo luego de que la luz se apagó. Ya que la luz objetivo tiene una duración de 0,5 segundos y el periodo de respuesta se extiende por 4,5 segundos, completando un período de respuesta de 5 segundos. Para determinar cómo se distribuyen las respuestas conductuales en este período, se realizó un histograma de frecuencia para las latencias de respuestas.

Teniendo la distribución temporal de las respuestas, se calculó la media y la desviación estándar. Estos parámetros permitieron estimar el valor de latencia que estaba por sobre las dos desviaciones estándar de la media de las respuestas. De forma arbitraria se consideró ese valor como el límite entre respuestas tempranas y respuestas tardías, dentro del periodo de respuesta. Justificamos la designación arbitraria de ambos periodos de respuesta, ya que las presiones de la palanca realizadas en la ventana tardía de respuesta serían ejecutadas al menos 2,5 segundos después del término de la luz lateral (objetivo). Además, estos valores de separación temporal ( $>2,5$  s) entre la presentación del estímulo blanco y la ejecución de la respuesta conductual, se han utilizado previamente en modelos de memoria de trabajo en roedores (Wallace et al., 1980; Porritt y Poling, 2008; Lind et al., 2015).

Para estimar si la precisión promedio de los animales durante la primera etapa del protocolo fue significativamente mayor a lo esperado por casualidad, se realizó la prueba t de Student de una muestra contra una media esperada de 0,5. Para observar los cambios potenciales en la precisión de las respuestas de las chinchillas en los diferentes días y condiciones (basal, BBN y VOC) del protocolo experimental, se realizó un análisis de efectos mixtos. Para realizar el análisis post hoc se utilizó una prueba de comparaciones múltiples de Dunnett.

Finalmente se estudió la asociación entre el rendimiento conductual para cada etapa del protocolo y la fuerza del reflejo olivococlear medial, las que se evaluaron por separado utilizando modelos lineales generalizados. Los datos fueron ajustados mediante un *logit link*. Todo el procesamiento de datos y los análisis estadísticos fueron

efectuados en MATLAB y Prisma Graphpad. Las barras de error en las cifras corresponden al error estándar de la media. Se definió la significancia estadística como:  $p > 0,05$  no significativo y  $p < 0,05$  como significativo.

## Resultados

Revisamos cómo se agrupaban las respuestas a lo largo del tiempo, encontramos que el promedio de la latencia de las respuestas correctas durante el período de 5 segundos fue de  $1,4 \pm 0,8$  segundos (promedio  $\pm$  desviación estándar). Luego, definimos el periodo de respuestas tardías como todas las presiones de la palanca que estaban a más de dos desviaciones estándar de la latencia media. Desde el inicio de la luz lateral (tiempo 0), las respuestas tempranas correspondieron a valores entre 0 y 3 segundos, y las respuestas tardías a valores entre 3 y 5 segundos, lo que se grafica en el histograma de respuestas de la Figura 5 (en blanco y amarillo).

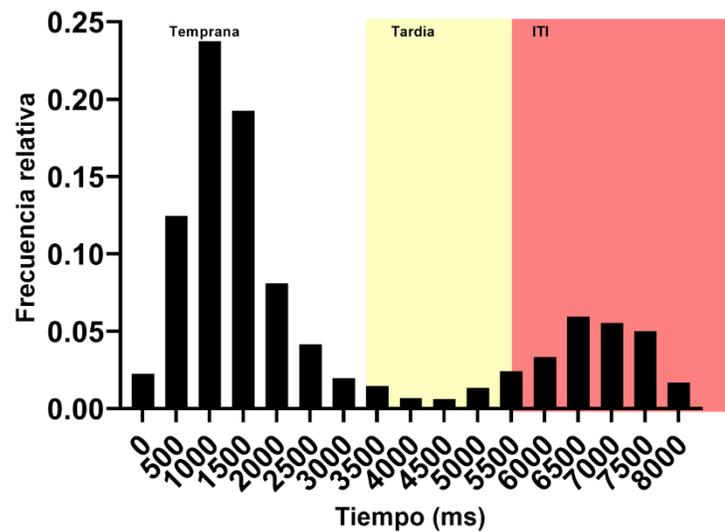


Figura 5.

Histograma que muestra la frecuencia de las respuestas (referencia días 1 a 4). La imagen muestra la frecuencia relativa de presiones de palanca en función del tiempo transcurrido de la prueba. Cada bin del histograma corresponde a una ventana de 500 ms. El cero representa el comienzo del tiempo de respuesta de los animales (inicio de luz lateral). Los primeros 5 s representan el tiempo en el que el animal recibió una

recompensa si presionaba la palanca correcta, que se dividió en una ventana de respuesta temprana (blanco) y una ventana de respuesta tardía (amarillo). Los últimos 3 segundos corresponden al tiempo en el que el animal no recibió recompensa por presionar la palanca correcta (roja).

También, se observaron las respuestas que se obtuvieron más allá del periodo de respuesta: las respuestas entre los ensayos (ITI). Estas respuestas se distribuyeron entre los 5 y 8 segundos después del inicio de la señal objetivo. Estas respuestas (ITI), también fueron analizadas a lo largo del protocolo considerando que, a pesar de que no eran recompensadas, fueron emitidas entre 4,5 y 7,5 segundos después de la señal objetivo (Figura 5). Es decir, respuestas a más de dos desviaciones estándar de la media de las respuestas, emitidas en ausencia de la luz objetivo y en presencia de distractores auditivos.

Teniendo establecidos los periodos de respuesta temprana, tardía e ITI, analizamos el rendimiento promedio de los animales durante el protocolo de 12 días para cada uno los períodos y en cada condición. Encontramos una alta precisión para las respuestas tempranas de las chinchillas durante la primera etapa del protocolo (días 1 al 4), donde los valores promedios fueron cercanos al 80% (0,78+/- 0,06).

A través de un análisis de efectos mixtos encontramos cambios significativos en la precisión a lo largo del protocolo experimental [ $F(11,132) = 3.954, p < 0.0001$ ], donde una prueba post hoc de Dunnett, mostró disminuciones significativas para los días 5 y 9 (Figura 6A, tabla inserta en la figura). Esta disminución significativa en el rendimiento corresponde a los primeros días de cada distractor. Dicho impacto sobre el rendimiento está en línea con lo reportado por Bowen et, al. 2020.

Para la ventana de tiempo tardía, la precisión promedio de las respuestas fue del 70% (0,7 +/- 0,17). En esta ventana de tiempo, un análisis de efectos mixtos también encontró cambios significativos en la precisión durante el protocolo experimental [ $F(11,128) = 2.186, p = 0.0189$ ]. En este caso, la prueba de Dunnett encontró disminuciones significativas para el día 9 del protocolo (Figura 6B, tabla inserta en la figura).

En el caso de la ventana de tiempo ITI, un 67% ( $0,67 \pm 0,1$ ) de las respuestas registradas se correspondían con la luz objetivo. Estos valores difieren significativamente de la precisión de 0,5 esperada solo por casualidad [prueba t de una muestra:  $t = 7,334$ ,  $df = 12$ ,  $p < 0,0001$ ]. Al igual que para las otras ventanas de tiempo, un análisis de efectos mixtos encontró cambios significativos en la precisión durante el protocolo experimental [ $F(11,131) = 2.993$ ,  $p = 0.0014$ ]. Y para este periodo, la prueba post hoc de Dunnett identificó una disminución significativa en las respuestas asociadas con la palanca correcta en los primeros días de cada distractor (Figura 6C, tabla inserta en la figura).

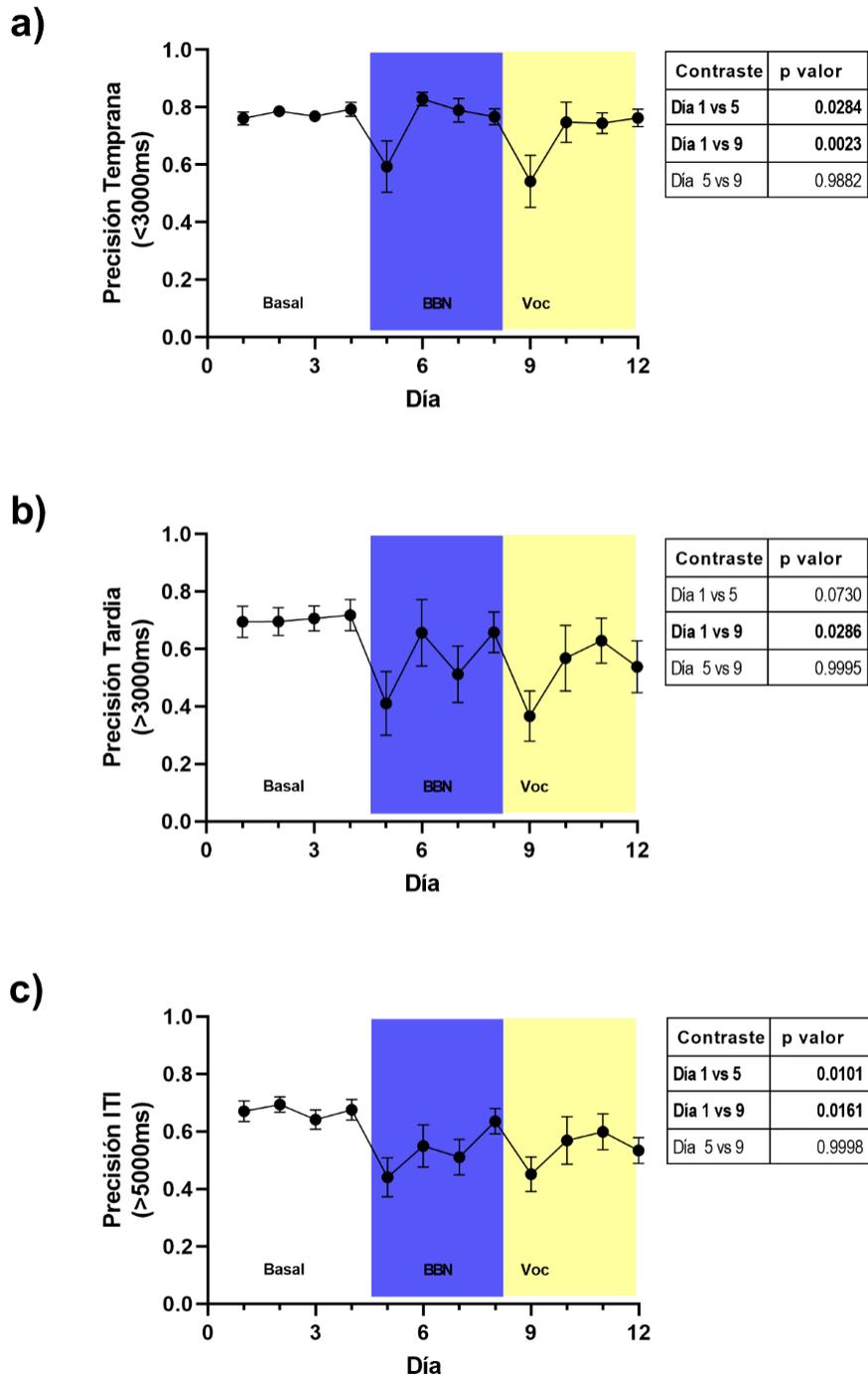


Figura 6.

Precisión promedio de las respuestas conductuales durante el protocolo experimental de 12 días. El panel (A) muestra la precisión promedio de las respuestas de la primera

ventana de tiempo (0–3 s). En el panel (B) se muestra la precisión promedio de las respuestas de la ventana de tiempo tardío (entre 3 y 5 s), mientras que en el panel (C) se muestra la precisión promedio de las respuestas ITI (entre 5 y 8 s). Los datos se muestran como media  $\pm$  EEM (n = 13 chinchillas). Usando modelos lineales de efectos mixtos, encontramos efectos significativos para el desempeño conductual en los días 5 y 9. A la derecha de cada figura se muestra una tabla con valores p de la prueba de comparaciones múltiples de Dunnett.

Por último, del mismo modo que en Bowen et. al., (2020), investigamos la asociación entre el desempeño en la tarea de discriminación visual con distractores auditivos y una medida del reflejo olivococlear medial. Con los valores de fuerza del reflejo olivococlear medial obtenidos de chinchillas despiertas, se evaluó la correlación con el rendimiento del animal en las tres etapas del protocolo y para cada periodo de respuesta.

En el caso de las respuestas tempranas (0-3 s) encontramos valores muy similares a los reportados previamente en Bowen et al., (2020). Identificamos una asociación entre la fuerza del reflejo MOC y la precisión de los animales en el primer día de la presentación del distractor auditivo. Para el día 5 (BBN-1) la amplitud de OEAPD a una frecuencia de 4080 Hz se correlacionó significativamente con la precisión de la tarea, mientras que para el día 9 la amplitud de OEAPD para las frecuencias 4080 y 6125 Hz se correlacionaron significativamente con la precisión de la tarea (en **negrita** Tabla 1).

Día de protocolo	Chi <sup>2</sup> -statistic vs. constant model	Frecuencia de OEAPD (Hz)	Valor de p
Día 1 (Basal)	5.03, Valor p = 0.284	2884	0.84013
		4080	0.14085
		5768	0.39765
		6125	0.56529
<b>Día 5 (BBN-1)</b>	<b>32.8,</b> <b>Valor p =</b> <b>1.15e-05</b>	2884	0.80788
		<b>4080</b>	<b>8.812e-07</b>
		5768	0.30353
		6125	0.54799
<b>Día 9 (VOC-1)</b>	<b>18.4,</b> <b>Valor p =</b> <b>0.0101</b>	2884	0.096375
		<b>4080</b>	<b>0.0005151</b>
		5768	0.89088
		<b>6125</b>	<b>0.0027593</b>

Tabla 1.

Los modelos lineales generalizados que evalúan la asociación entre la fuerza del reflejo MOC (cambios inducidos por OEAPD EAC) y el rendimiento conductual para respuestas tempranas (<3 s).  $p < 0.05$ . Se observa en negrita las correlaciones positivas entre la fuerza del reflejo MOC

Por otro lado, el análisis con modelos lineales generalizados para las respuestas tardías (3-5 segundos), no encontró una relación significativa entre la fuerza del reflejo MOC a diferentes frecuencias y el desempeño de los animales en la tarea conductual, lo que se ilustra en la tabla 2.

Día de protocolo	Chi <sup>2</sup> -statistic vs. constant model	Frecuencia de OEAPD (Hz)	Valor de p
Día 1 (Basal)	4.63, p-value = 0.327	2884	0.72855
		4080	0.196
		5768	0.80074
		6125	0.20841
Día 5 (BBN-1)	5.04, p-value = 0.655	2884	0.14574
		4080	0.24389
		5768	0.47796
		6125	0.22945
Día 9 (VOC-1)	4.68, p-value = 0.699	2884	0.97467
		4080	0.038895
		5768	0.5728
		6125	0.34455

Tabla 2.

Los modelos lineales generalizados evaluaron la asociación entre la fuerza del reflejo MOC (cambios inducidos por OEAPD EAC) y el rendimiento conductual para respuestas tardías (3–5 s).  $p < 0.05$ .

En el caso de la ventana de tiempo ITI, sí encontramos correlaciones significativas entre la fuerza del reflejo MOC y la precisión de los animales en los primeros días de presentación del distractor auditivo. Encontramos que para el día 5 (BBN-1) la amplitud de OEAPD a una frecuencia de 4080 Hz se correlacionó significativamente con la precisión de la tarea, mientras que para el día 9 (VOC-1) las OEAPD a frecuencias de 2884, 4080 y 6125 Hz mostraron una correlación significativamente con la precisión de la tarea (Tabla 3). Es importante señalar que, en ausencia de distractores auditivos (durante la primera etapa del protocolo), el reflejo

MOC no predijo el rendimiento en ninguna de las ventanas de tiempo (Tablas 1, 2 y 3).

Día de protocolo	Chi <sup>2</sup> -statistic vs. constant model	Frecuencia de OEAPD (Hz)	Valor de p
Día 1 (Basal)	3.64, p-value = 0.456	2884	0.35059
		4080	0.76746
		5768	0.46773
		6125	0.37795
Día 5 (BBN-1)	<b>18,</b> <b>p-value = 0.00124</b>	2884	0.81658
		<b>4080</b>	<b>0.010142</b>
		5768	0.13809
		6125	0.2212
Día 9 (VOC-1)	<b>93,</b> <b>p-value = 3e-19</b>	<b>2884</b>	<b>4.333e-09</b>
		<b>4080</b>	<b>0.0007402</b>
		5768	0.35803
		<b>6125</b>	<b>5.699e-06</b>

Tabla 3.

Los modelos lineales generalizados que evalúan la asociación entre la fuerza del reflejo MOC (cambios inducidos por OEAPD EAC) y el rendimiento conductual para las respuestas de tiempo ITI (> 5 s). p<0.05.

## Discusión

### Limitaciones

Por supuesto, resulta fundamental profundizar en las limitaciones del trabajo. Quizá una de las más relevantes, es que nuestros resultados no se obtuvieron a partir de una tarea diseñada para evaluar directamente la memoria de trabajo. Definimos y seleccionamos arbitrariamente las respuestas tardías en una prueba diseñada inicialmente para la atención visual (Delano et al., 2007). Solo el 5,3% de las respuestas se produjeron en la ventana que definimos como tardía.

Por otro lado, la evaluación del reflejo MOC se realizó en momentos separados del protocolo experimental, lo que limita el poder establecer relaciones más directas entre ambas pruebas y, por lo tanto, deja abierta la posibilidad de haber obtenido diferentes valores del reflejo MOC en las condiciones experimentales del protocolo de 12 días. Sin embargo, es válido de mención haber realizado la medición del reflejo MOC en animales completamente despiertos, especialmente considerando que la evidencia muestra que la fuerza del reflejo MOC se subestima en las chinchillas anestesiadas, lo que fue descrito por Aedo et. al., (2015).

Algo similar ocurre al considerar las respuestas en el periodo ITI como un indicador de las respuestas tardías válidas, ya que el hecho de que estas respuestas no tuvieran recompensa no permite validarlas de igual forma que las obtenidas durante el periodo de respuesta.

### Periodos de respuesta y reflejo MOC.

En el presente trabajo mostramos que el funcionamiento del reflejo MOC se asocia con el desempeño en una tarea de discriminación visual con distractores auditivos en respuestas cognitivas tardías. En particular, encontramos que la precisión de las respuestas registradas a más de 2,5 segundos después del término de la luz objetivo se asocia con variabilidad individual en la fuerza del reflejo MOC en presencia de distractores auditivos.

Los datos son parte del trabajo realizado por Bowen et al. (2020), donde se demostró que el reflejo MOC es un predictor del rendimiento de la atención visual

selectiva en presencia de distractores auditivos. Aquí se realizó un nuevo análisis, incorporando diferentes períodos en la tarea. Dividimos las respuestas en dos períodos: un período inicial (menos de 2,5 s después del término de la luz objetivo) y un período tardío (desde 2,5 segundos después del término de la luz objetivo).

Los resultados en la ventana temprana fueron equivalentes a los encontrados por Bowen et. al., (2020). Los distractores auditivos redujeron significativamente el rendimiento (Figura 6A) y los valores del reflejo MOC fueron buenos predictores del rendimiento individual de la chinchilla (Tabla 1). También es relevante señalar que los resultados obtenidos en la ventana de tiempo tardía e ITI fueron cualitativamente similares a los observados en la ventana temprana y, por tanto, a los reportados por Bowen et al., (2020).

Desempeño en periodos de respuesta tempranos y tardíos

Además de las respuestas correctas tempranas y tardías, también analizamos el período de respuestas del período entre ensayos (ITI). Este período ocurre entre 4,5 y 7,5 segundos de oscuridad después del término de la luz objetivo (luz lateral). Consideramos que éste período de tiempo es lo suficientemente largo para necesitar algún tipo de memoria del estímulo objetivo como para lograr un desempeño superior al aleatorio en una prueba de discriminación de dos alternativas (50%).

Al observar la primera etapa del protocolo experimental (sin distractores), tanto en la ventana de tiempo tardía como en la ITI, las respuestas correctas de los animales fueron significativamente mayores que las esperadas por respuestas aleatorias (50%). Estas respuestas tardías se registraron al menos 2,5 segundos después del inicio del periodo de oscuridad. Estos valores están dentro de los márgenes utilizados en modelos animales de memoria de trabajo animal, en lo que respecta a la duración del periodo entre la señal objetivo y la emisión de la respuesta en ausencia de la señal objetivo (Wallace et. al., 1980; Porritt y Poling, 2008; Lind et. al., 2015).

Discutimos que, para las respuestas tempranas, los procesos cognitivos involucrados se relacionan más con atención selectiva visual. Mientras que para las respuestas en las ventanas de tiempo tardía e ITI, los procesos implicados podrían

estar más relacionados con mecanismos de memoria de trabajo visual o motora, permitiendo que el animal presione correctamente la palanca asociada con el breve estímulo objetivo (de 0,5s de duración) que había desaparecido más de 2,5 segundos antes de la respuesta. Sin embargo, no es posible determinar con seguridad que estas respuestas se deban al uso de memoria de trabajo.

Por ejemplo, no podemos descartar que el rendimiento en las respuestas tardías pueda explicarse (en parte) por el uso de estrategias no mnemotécnicas como la orientación corporal hacia la palanca de la respuesta correcta (Pontecorvo, 1996) ya que es común el fenómeno de la “mediación” como estrategia facilitadora, donde el animal puede orientar la respuesta correcta antes del periodo de espera (Vogel, McCollough y Machizawa, 2005). Por lo que proponemos considerarlas como respuestas cognitivas tardías. Por lo anterior, trabajos futuros deberán considerar analizar esta variable, por ejemplo, a través del análisis del registro de video de los ensayos.

#### Distractores auditivos y rendimiento conductual

A diferencia de los datos reportados por Bowen et. al., (2020), no observamos diferencias significativas entre los efectos de ambos distractores auditivos sobre el desempeño de la respuesta conductual en los periodos de respuesta temprana y tardía. Creemos que esto se debe al pequeño número de respuestas analizadas en ambos periodos.

Por otro lado, solo encontramos una disminución significativa del desempeño conductual para el primer día 9 de la ventana tardía (Figura 6B). Es probable que, a diferencia del ruido de banda ancha, las vocalizaciones son señales ecológicamente relevantes, por lo que se espera que tengan un mayor efecto de distracción. Para el caso de la ventana de tiempo ITI, reportamos disminuciones significativas tanto para el día 5 (ruido banda ancha) como para el primer día 9 (vocalizaciones, Figura 6C).

Llama la atención la recuperación del desempeño desde el segundo día de presentación de los distractores auditivos. Creemos que este comportamiento se debe a un fenómeno de habituación a los distractores auditivos (Tompson y Spencer, 1966;

Pérez-González y Malmierca, 2014). La relevancia de un estímulo distractor está dada por la novedad del nuevo estímulo, lo que ocurre en los días 5 y 9, para el ruido de banda ancha y vocalizaciones, respectivamente. Sin embargo, dicho distractor pierde novedad a medida que se repite en el tiempo.

A diferencia de los resultados reportados por Bowen et. al., (2020), donde se encontraron diferencias significativas en el efecto sobre el rendimiento por parte de los distractores, teniendo las vocalizaciones efectos conductuales más fuertes. Nuestros análisis no mostraron diferencias significativas en el rendimiento entre las dos condiciones, es decir, entre los días 5 (ruido de banda ancha) y día 9 (vocalizaciones), tanto para las respuestas en el periodo tardío e ITI.

#### Carga emocional del distractor auditivo ecológico

Las vocalizaciones utilizadas como distractor ecológico fueron publicadas en el trabajo de Moreno-Gómez et. al., (2015), y se obtuvieron en un contexto de miedo. Por lo que el estímulo tiene una carga emocional importante, lo podríamos considerar como un estímulo de amenaza. En paradigmas de ansiedad se suelen utilizar estímulos de amenaza para inducir ansiedad en los sujetos en tareas de discriminación de estímulos irrelevantes, incorporándolos principalmente en los periodos entre ensayos.

Considerando lo anterior, se podría discutir que los efectos mayores que tuvieron las vocalizaciones sobre el desempeño y que reportó Bowen et. al., (2020), podrían explicarse como un efecto de la ansiedad (inducida por el tipo de distractor) en la capacidad de destinar recursos atencionales a los estímulos relevantes. En nuestro caso, los distractores no presentaron diferencias significativas sobre el desempeño cuando se compararon entre sí. Consideramos que el bajo número de respuestas analizadas podría explicar estas diferencias.

Al analizar la asociación entre fuerza del reflejo MOC y el desempeño de los animales en ausencia y presencia de distractores auditivos, encontramos que la fuerza del reflejo MOC si predijo el desempeño de los animales en presencia de distractores auditivos en la ventana temprana (Tabla 1). Sin embargo, los análisis de modelos lineales generalizados no mostraron una correlación significativa entre los valores del reflejo MOC individuales y el rendimiento animal en la ventana de tiempo tardía (Tabla

2). Nuevamente, esto probablemente se relacione con el bajo número de respuestas disponibles para el análisis. Para el período de tiempo ITI, el análisis del modelo lineal generalizado mostró asociaciones entre el reflejo MOC y las respuestas de los animales en presencia de ambos distractores auditivos (Tabla 3).

Creemos que nuestros hallazgos están de acuerdo con la evidencia previa que posiciona al sistema eferente olivococlear como un filtro biológico y que forma parte de una red dinámica que regula activamente las entradas sensoriales en función de la relación del organismo con el mundo y que es sensible a los estados cognitivos y la experiencia (Oatman, 1971; Delano et al., 2007; Wittekindt et al., 2014; Terreros et al., 2016; Dragicevic et al., 2019; Bowen et al., 2020; Lauer et al., 2021; Marcenaro et al., 2021).

En este contexto, la evidencia actual sugiere que al menos esta red descendente está involucrada en el control sensorial asociado a respuestas cognitivas tardías, pero que también es posible extender esta noción a la cognición como un fenómeno global. Finalmente, proponemos que el control eferente auditivo actúa como un filtro biológico que se relaciona de forma global con los procesos cognitivos.

## Limitaciones

Por supuesto, resulta fundamental profundizar en las limitaciones del trabajo. Quizá una de las más relevantes, es que nuestros resultados no se obtuvieron a partir de una tarea diseñada para evaluar directamente la memoria de trabajo. Definimos y seleccionamos arbitrariamente las respuestas tardías en una prueba diseñada inicialmente para la atención visual (Delano et al., 2007). Solo el 5,3% de las respuestas se produjeron en la ventana que definimos como tardía.

Por otro lado, la evaluación del reflejo MOC se realizó en momentos separados del protocolo experimental, lo que limita el poder establecer relaciones más directas entre ambas pruebas y, por lo tanto, deja abierta la posibilidad de haber obtenido diferentes valores del reflejo MOC en las condiciones experimentales del protocolo de 12 días. Sin embargo, es válido de mención haber realizado la medición del reflejo MOC en animales completamente despiertos, especialmente considerando que la

evidencia muestra que la fuerza del reflejo MOC se subestima en las chinchillas anestesiadas, lo que fue descrito por Aedo et. al., (2015).

Algo similar ocurre al considerar las respuestas en el periodo ITI como un indicador de las respuestas tardías válidas, ya que el hecho de que estas respuestas no tuvieran recompensa no permite validarlas de igual forma que las obtenidas durante el periodo de respuesta.

## Conclusión

Fue posible demostrar que el sistema eferente auditivo puede ser un filtro biológico a respuestas auditivas involucrado en procesos cognitivos distintos a atención selectiva ya que nuestros resultados indican que la fuerza del reflejo olivococlear es relevante para el rendimiento conductual de respuestas conductuales tardías emitidas luego de más de 2,5 segundos de oscuridad después del término de la señal objetivo, durante una tarea de atención visual selectiva en presencia de distractores auditivos ecológicamente relevantes.

## Referencias (Bibliografía)

1. Aedo, C., Tapia, E., Pavez, E., Elgueta, D., Delano, P. H., y Robles, L. "Stronger efferent suppression of cochlear neural potentials by contralateral acoustic stimulation in awake than in anesthetized chinchilla". *Frontiers in Systems Neuroscience*, 9, 21, 2015.
2. Aedo, C., Terreros, G., León, A., and Delano, P. H. "The corticofugal effects of auditory cortex microstimulation on auditory nerve and superior olivary complex responses are mediated via alpha-9 nicotinic receptor subunit". *PLoS One* 11:e0155991, 2016.
3. Bowen, M., Terreros, G., Moreno-Gómez, F. N., Ipinza, M., Vicencio, S., Robles, L., et al. "The olivocochlear reflex strength in awake chinchillas is relevant for behavioural performance during visual selective attention with auditory distractors". *Sci. Rep.* 10:14894, 2020.
4. Delano, P. H., Elgueta, D., Hamame, C. y Robles, L. "Selective Attention to Visual Stimuli Reduces Cochlear Sensitivity in Chinchillas". *The Journal of Neuroscience*.27(15):4146–4153, 2007.
5. Dragicevic, C. D., Marcenaro, B., Navarrete, M., Robles, L., and Delano, P. H. "Oscillatory infrasonic modulation of the cochlear amplifier by selective attention". *PLoS One* 14:e0208939, 2019.
6. Feliciano, M. Saldaña, E. y Mugnaini, E. "Direct projections from the rat primary auditory neocortex to nucleus sagulum, paralemniscal regions, superior olivary complex and cochlear nuclei". *Aud. Neurosci.* 1, 287–308, 1995.
7. Fritz, J. B., Elhilali, M., David, S. V., and Shamma, S. A. "Auditory attention - focusing the searchlight on sound". *Curr. Opin. Neurobiol.* 17, 437–455, 2007.
8. Guinan Jr, J. J. "Physiology of olivocochlear efferents. In: *The cochlea*". pp 435–502. New York: Springer, 1996.
9. Hamame, C. M., Delano, P. H. & Robles, L. "Relevance of a neutral cue in a two-choice detection task in the rat". *Biol. Res.* 39, 259–267, 2006.

10. Hernández-Peón, R., Scherrer, H., and Jouvet, M. "Modification of electric activity in cochlear nucleus during Attention in unanesthetized Cats". *Science* 123, 331–332, 1956.
11. Honig, W.K. "Studies of working memory in pigeons". *Cognitive Processes in Animal Behavior*, Erlbaum, Hillsdale, NJ, 1978, pp. 211-248, 1978.
12. Johnson, J. A., and Zatorre, R. J. "Neural substrates for dividing and focusing attention between simultaneous auditory and visual events". *Neuroimage* 31, 1673–1681, 2006.
13. Kawase, T., y Liberman, M. C. "Antimasking effects of the olivocochlear reflex. I. Enhancement of compound action potentials to masked tones". *J. Neurophysiol.* 70, 2519–2532, 1993.
14. Kemp DT. "Otoacoustic emissions, their origin in cochlear function, and use". *British Medical Bulletin.* 63:223-241, 2002.
15. Lauer, A. M., Jimenez, S. V., and Delano, P. H. "Olivocochlear efferent effects on perception and behavior". *Hear. Res.* 2021:108207, 2021.
16. León, A., Elgueda, D., Silva, M. A., Hamamé, C. M., y Delano, P. H. "Auditory cortex basal activity modulates cochlear responses in chinchillas". *PLoS One.* 7: e36203, 2012.
17. Lind, J., Enquist, M., and Ghirlanda, S. "Animal memory: a review of delayed matching-to-sample data. *Behav*". *Processes* 117, 52–58, 2015.
18. Madrid-López, N., Estrada, J., Díaz, J., Bassi, A., Delano, P. H., & Ocampo-Garcés, A. . "The Sleep–Wake Cycle in the Nicotinic Alpha-9 Acetylcholine Receptor Subunit Knock-Out Mice". *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 11, 2017.
19. Maison, S. F. & Liberman, M. C. "Predicting vulnerability to acoustic injury with a noninvasive assay of olivocochlear reflex strength". *J. Neurosci.* 20, 4701–4707, 2000.
20. Marcenaro, B., Leiva, A., Dragicevic, C., López, V., and Delano, P. H. "The medial olivocochlear reflex strength is modulated during a visual working memory task". *J. Neurophysiol.* 125, 2309–2321, 2021.

21. Moreno-Gómez, F., Leon, A., Velásquez, N., Penna, M. & Delano, P. "Individual and sex distinctiveness in bark calls of domestic chinchillas elicited in a distress context". *J. Acoust. Soc. Am.* 138, 1614, 2015.
22. Mulders, W. H. y Robertson D. "Evidence for direct cortical innervation of medial olivocochlear neurones in rats". *Hear Res.* 144:65–72, 2000.
23. Oatman, L. C. "Role of visual attention on auditory evoked potentials in unanesthetized cats". *Exp Neurol* 32:341–356, 1971.
24. Oliver, D. Klocker, N., Schuck, J., Baukowitz, T., Ruppertsberg J.P. y Fakler, B. "Gating of Ca<sup>2+</sup>-activated K channels controls fast inhibitory synaptic transmission at auditory outer hair cells". *Neuron* 26:595–601, 2000.
25. Olton, D.S. and Samuelson, R.J. "Remembrance of places passed: spatial memory in rats". *L Exp. Psychol. Animal Behav. Proc.*, 2. 97-116, 1976.
26. Pérez-González D, Malmierca MS. "Adaptation in the auditory system: an overview". *Front Integr Neurosci.* Feb 21;8:19, 2014.
27. Perrot, X., Ryvlin, P., Isnard, J., Guénot, M., Catenoix, H., Fischer, C., Collet, L. "Evidence for Corticofugal Modulation of Peripheral Auditory Activity in Humans". *Cerebral Cortex*, 16(7), 941–948, 2005.
28. Pontecorvo, M. J. y Clissold, D. B. . "Complex and delayed discriminations: automated repeated measures techniques". *Methods in Behavioral Pharmacology.* 147-193, 1993.
29. Pontecorvo, M.J., Sahgal A. y Steckler T. "Further developments in the measurement of working memory in rodents". *Cogn. Brain Res.*, 3 205-213, 1996.
30. Porritt, M., and Poling, A. "Scopolamine effects under a titrating-delayed-nonmatching-to-position procedure". *Psychol. Rec.* 58, 37–49, 2008.
31. Rasmussen, G. L. "The olivary peduncle and other fiber projections of the superior olivary complex". *The Journal of Comparative Neurology*, 84(2), 141–219, 1946.
32. Shomstein, S., and Yantis, S. "Control of attention shifts between vision and audition in human cortex". *J. Neurosci.* 24, 10702–10706.2004.

33. Simon SS, Tusch ES, Holcomb PJ, Daffner KR. "Increasing working memory load reduces processing of cross modal task-irrelevant stimuli even after controlling for task difficulty and executive capacity". *Front Hum Neurosci* 10: 380,2016.
34. Sorqvist P., Stenfelt S., Ronnberg J. "Working memory capacity and visual-verbal cognitive load modulate auditory-sensory gating in the brainstem: toward a unified view of attention". *J Cogn Neurosci* 24: 2147–2154, 2012.
35. Terreros, G. y Délano, P. H. "Corticofugal modulation of peripheral auditory responses". *Frontiers in Systems Neuroscience*. 9, 134, 2015.
36. Terreros, G., Jorratt, P., Aedo, C., Elgoyhen, A. B., and Delano, P. H. "Selective attention to visual stimuli using auditory distractors is altered in alpha-9 nicotinic receptor subunit knock-out mice". *J. Neurosci*. 36, 7198–7209, 2016.
37. Tompson, R. F. y Spencer, W. A. "Habituation: A model phenomenon for the study of neuronal substrates of behavior". *Psychol. Rev.* 73, 16–43, 1966.
38. Tusch ES, Alperin BR, Holcomb PJ, Daffner KR. "Increased early processing of task-irrelevant auditory stimuli in older adults". *PLoS One* 11.2016.
39. Velluti, R., Pedemonte, M., y Garcia-Austt, E. . "Correlative changes of auditory nerve and microphonic potentials throughout sleep". *Hear Res*. 39. 203–208, 1989.
40. Vogel, E. K., McCollough, A. W., & Machizawa, M. G. "Neural measures reveal individual differences in controlling access to working memory". *Nature*. 438(7067), 500–503, 2005.
41. Wallace, J., Steinert, P. A., Scobie, S. R., and Spear, N. E. . Stimulus modality and short-term memory in rats. *Anim. Learn. Behav.* 8, 10–16, 1980.
42. Warr, W. B., & Guinan, J. J. "Efferent innervation of the organ of corti: two separate systems". *Brain Research*, 173(1), 152–155, 1979.
43. Wittekindt, A., Kaiser, J., and Abel, C. . "Attentional modulation of the inner ear: a combined otoacoustic emission and EEG study". *J. Neurosci*. 34, 9995–10002, 2014.

44. Woldorff, M. G., Gallen, C. C., Hampson, S. A., Hillyard, S. A., Pantev, C., Sobel, D., et al. "Modulation of early sensory processing in human auditory cortex during auditory selective attention". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90, 8722–8726, 1993.